

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Ana Rukavina**

**BK-virusom uzrokovana nefropatija**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2018.**

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za nefrologiju, hipertenziju, dijalizu i transplantaciju Klinike za unutrašnje bolesti, Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom doc. dr. sc. Nikoline Bašić Jukić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2017/2018.

**Popis kratica :**

**BKV-** BK virus

**BKVAN (engl. BK virus-associated nephropathy)-** BK virusom uzrokovana nefropatija

**KTR (engl. Kidney transplant recipient)-** primatelj bubrežnog presatka

**ICN (engl. Calcineurin inhibitor) –** inhibitor kalcijneurina

**PCR (engl. Polymerase chain reaction) –** Lančana reakcija polimeraze

**SEM (engl. Standard error of the mean)-** Standardna pogreška srednje vrijednosti

**TAC –** Takrolimus

**EVERO –** Everolimus

**MMF –** Mikofenolat mofetil

**Cys A -** Ciklosporin A

# SADRŽAJ

|                              |    |
|------------------------------|----|
| 1. SAŽETAK.....              | I  |
| 2. SUMMARY .....             | II |
| 3. UVOD.....                 | 1  |
| 4. HIPOTEZA .....            | 3  |
| 5. CILJEVI RADA .....        | 3  |
| 6. ISPITANICI I METODE ..... | 4  |
| 7. REZULTATI.....            | 5  |
| 8. RASPRAVA .....            | 11 |
| 9. ZAKLJUČAK.....            | 13 |
| 10. ZAHVALE.....             | 14 |
| 11. LITERATURA .....         | 15 |
| 12. ŽIVOTOPIS.....           | 18 |

# 1. SAŽETAK

## BK-VIRUSOM UZROKOVALA NEFROPATIJA

Ana Rukavina

**Uvod:** Suvremena imunosupresivna terapija u bolesnika s transplantiranim bubregom temelji se na primjeni inhibitora kalcijneurina (ICN). U posljednjem desetljeću sve većom primjenom takrolimusa povećala se učestalost disfunkcije presatka uzrokovane BK virusom. Bolesnici sa reaktiviranim BK virusom najčešće imaju asimptomatsku viruriju ili viremiju s ili bez pogoršanja funkcije bubrežnog presatka.

**Cilj:** Glavni cilj ovog istraživanja bio je istražiti učestalost reaktivacije BK virusa u naših bolesnika, pojave BK-virusom uzrokovane nefropatije i učinkovitost različitih metoda liječenja.

**Materijali i metode:** U ovom istraživanju pregledana je medicinska dokumentacija 1960 bolesnika koji se prate u našem transplantacijskom centru. U posljednjih godinu dana u našem se centru radi probir svih novotransplantiranih bolesnika na BK virus, u urinu i krvi 1, 3, 6, 9 i 12 mjeseci nakon transplantacije, a kod ostalih bolesnika BK virurija i viremija se određuje pri svakom pogoršanju funkcije presatka. Izdvojeni su bolesnici kod kojih je dokazan BK virus u krvi i/ili urinu. Retrogradno je praćena promjena imunosupresivne terapije, obzirom na pojavu BK virusa te njena uspješnost.

**Rezultati:** U 59 bolesnika (78% muškaraca) došlo je do pojave BK virusa u urinu i/ili krvi. Prosječna dob bolesnika bila je 47 godina. Devetnaest bolesnika (32%) imalo je izoliranu viruriju, 10% bolesnika imalo je viremiju, a 58% imalo je i viruriju i viremiju. U trenutku dijagnoze 68% bolesnika liječeno je takrolimusom, a 15% ciklosporinom uz kortikosteroide i mikofenolat mofetil. Bolesnici su liječeni smanjivanjem doza imunosupresiva, uvođenjem ciprofloksacina, prevođenjem takrolimusa u ciklosporin i/ili zamjenom ICN everolimusom. **Zaključak:** Ovim istraživanjem prikazali smo da 3% naših bolesnika ima reaktivaciju BK virusa, a liječeni su različitim terapijskim pristupima. Uvođenjem redovnog modela praćenja reaktivacije BK virusa u naših bolesnika omogućiti će se pravovremena terapijska intervencija.

**Cljučne riječi:** BK virus, BK-virusom uzrokovana nefropatija, imunosupresivna terapija

## 2. SUMMARY

### BK VIRUS-ASSOCIATED NEPHROPATHY

Ana Rukavina

**Introduction:** Modern immunosuppressive therapy in renal transplantation is based on the use of calcineurin inhibitors (CNI). In the last decade, increased use of tacrolimus enhanced the incidence of graft dysfunction caused by BK virus. In most patients, BK reactivation manifests as asymptomatic BK viruria and/or viremia with or without deterioration of graft function.

**Objective:** The aim of our study was to investigate the incidence of BK reactivation in our patients, incidence of BK virus-associated nephropathy, and the efficacy of different therapy approaches.

**Materials and methods:** We analyzed the medical records of 1960 patients in our transplant center. In the past year, we started screening all newly transplanted patients for BK virus in blood and urine (B/U) 1, 3, 6, 9, and 12 months after transplantation. In all other cases BK virus (B/U) was assessed if any sign of graft deterioration was found. We selected patients with BK positive blood and/or urine samples, and retrospectively assessed the change in their immunosuppressive therapy regarding BK virus and the efficacy of the intervention.

**Results:** In 59 patients (78% male), BK virus was detected in urine and/or blood. Average patient age was 47 years. Nine patients (32%) had isolated viruria, 10% had viremia, and 58% had both viruria and viremia. At the time of diagnosis 68% of the patients received tacrolimus and 15% received cyclosporine with corticosteroids and mycophenolic acid. Different therapy approaches were selected: reduction of the immunosuppressive therapy dose, introduction of ciprofloxacin, conversion of tacrolimus to cyclosporine and/or conversion of CNI to everolimus.

**Conclusion:** In this study, we present that 3% of our patients now have a BK virus reactivation which is being treated with different therapy approaches. Introducing planned screening of BK virus reactivation in newly transplanted patients allows timely therapeutic intervention.

**Keywords:** BK virus, BK virus-associated nephropathy, immunosuppressive therapy

### 3. UVOD

Transplantacija bubrega je prioritetan oblik liječenja kod završnog stadija kronične bubrežne bolesti u svih bolesnika bez kontraindikacije za operativni zahvat i primjenu imunosupresivne terapije (1). Primjena potentnih imunosupresivnih lijekova poslije transplantacije smanjila je incidenciju akutnog odbacivanja bubrežnog transplantata na manje od 10%. Nažalost, infekcija BK virusom (BKV) je značajna komplikacija moderne imunosupresivne terapije koja se koristi nakon transplantacije bubrega (2). Infekcija BK virusom stečena je uglavnom u ranom djetinjstvu zbog čega 60-80 % odrasle populacije ima protutijela na ovaj virus.

Uglavnom se radi o subkliničkim infekcijama nakon kojih virus perzistira u latentnom obliku unutar bubrega (3). Reaktivacija BKV se očituje u urinu (BK virurija) i/ili krvi (BK viremija), i povezana je sa visokim rizikom odbacivanja transplantata i nastanka sa BK virusom povezane nefropatije (BKVAN).

Rutinski probir na reaktivaciju BKV poslije transplantacije se široko preporuča. Obzirom na preporuke „Kidney Disease: Improving Global Outcomes “ (KDIGO), probir na BKV bi trebalo provesti u prvim mjesecima poslije transplantacije (prvih 3-6 mjeseci), te zatim svaka 3 mjeseca do kraja prve godine poslije transplantacije (4). Cilj rane dijagnoze i terapije BK viremije u početnim fazama akutne infekcije je prevencija progresivnog pogoršanja funkcije presatka, koje je u velikoj mjeri povezano sa BK virusom uzrokovanom nefropatijom (BKVAN). U procjeni rizika za nastanak BKVAN kod bolesnika s transplantiranim bubregom, korisna metoda je dijagnoza infekcije BK virusom u uzorcima plazme pomoću lančane reakcije polimeraze (5).

BK virusom uzrokovana nefropatija je u posljednje vrijeme prepoznata kao uzrok kronične bolesti bubrega, kod pacijenata sa transplantacijom solidnih organa, i ostalih pacijenata s kliničkim entitetima koji su povezani sa imunosupresijom (6). Uz to, istraživanja su pokazala da BKVAN dovodi do zatajivanja funkcije bubrežnog presatka u 10 do 100% pacijenata s prisutnom infekcijom (7, 2).

Unatoč čestoj pojavi i visokom riziku za razvoj komplikacija bubrežnog presatka, još ne postoje točne smjernice vezano za terapiju infekcije BK virusom. U slučaju reaktivacije virusa, najbolja terapija je redukcija imunosupresije, uz koju se veže rizik akutnog odbacivanja presatka. To uključuje prvenstveno redukciju kalcijneurinskih inhibitora (8), ili

redukciju/prestanak davanja antimetaboličkih lijekova (9, 10), a moguća je i istovremena redukcija i jednih i drugih. U svrhu terapije reaktivacije BKV može se napraviti promjena lijekova u manje potentne, kao što je ciklosporin A (ukoliko se takrolimus koristi kao prvi red terapije), zatim azatioprin, sirolimus ili leflunomid (11).

Postoji nekoliko istraživanja vezano za terapiju BK virusa. Zaključci iz tih istraživanja govore da rana intervencija sa primjerenom redukcijom imunosupresije u slučaju replikacije BKV (BKV u urinu  $\geq 1.0 \times 10^4$  kopija/mL) kod primaoca bubrežnog presatka (KTR), može biti korisna u stabilizaciji funkcije presatka i poboljšanju dugoročnih ishoda (12). Rano započeta primjena levofloksacina nakon transplantacije nije se pokazala učinkovitom u prevenciji BK virurije. Ta intervencija je udružena s povišenim rizikom štetnih učinaka kao što je bakterijska rezistencija (2). Prema rezultatima Moscarelli i sur. dokazano je da u usporedbi sa terapijom mikofenolne kiseline (MPA) i ciklosporina A (CyA), kombinirana terapija everolimusom (EVR) i niskom dozom ciklosporina A smanjuje rizik za BK viremiju poslije transplantacije bubrega (13). Prilikom usporedbe ciklosporina A i takrolimusa (Tac), ciklosporin je povezan sa značajno manjim rizikom za nastanak BK viremije u 6-om i 12-om mjesecu kod primaoca bubrežnog presatka (KTR) koji su na terapiji basiliksimabom, mikofenolnom kiselinom i steroidima (14). Što se tiče steroida, rezultati istraživanja Kim i sur. pokazali su da visoke doze steroida induciraju reaktivaciju BK virusa, te rezultiraju lošim dugoročnim ishodom bubrežnog presatka (15).

Kombinacija leflunomida i everolimusa također je dokazana kao sigurna terapija spašavanja u liječenju BKVAN (16). U nedostatku specifične antivirusne terapije, trenutna terapija se pouzda u redukciju imunosupresije, i korištenje rastućih koncentracija BKV u krvi i urinu kao markera bolesti (17).

Uzimajući u obzir navedeno, možemo zaključiti da se radi o jednom još nedovoljno istraženom području, te se nije još odredio pravilan način liječenja reaktivacije BK virusa nakon transplantacije bubrega.



## **4. HIPOTEZA**

Ranom intervencijom i promjenom terapije, prilikom dijagnoze povišenih koncentracija BKV u krvi i/ili urinu, može se spriječiti nastanak BKVAN i poboljšati ishod bubrežnog presadka.

## **5. CILJEVI RADA**

Glavni cilj istraživanja bio je proučiti utjecaj promjene imunosupresivne terapije na reaktivaciju BKV te otkriti najbolju intervenciju u slučaju povišenih koncentracija BKV u krvi i/ili urinu.

Specifični ciljevi bili su

- prikazati demografske karakteristike bolesnika (dob, spol)
- prikazati učestalost BKV reaktivacije kod primatelja bubrežnog presatka
- ukazati na važnost problema reaktivacije BKV i nastanka BKVAN
- prikazati najčešće korištenu imunosupresivnu terapiju poslije bubrežne transplantacije
- prikazati ishode liječenja bolesnika (odbacivanje ili preživljavanje bubrežnog presatka)

## 6. ISPITANICI I METODE

U ovom retrospektivnom kohortnom istraživanju, pregledana je medicinska dokumentacija 1960 bolesnika koji se prate u našem transplantacijskom centru. Radi se o bolesnicima kojima je transplantiran bubreg.

U posljednjih godinu dana u našem se centru radi probir svih novo transplantiranih bolesnika na BK virus, u urinu i krvi 1, 3, 6, 9, i 12 mjeseci nakon transplantacije, a kod ostalih bolesnika BK virurija i viremija se određuje pri svakom pogoršanju funkcije bubrežnog presatka. Iz uzoraka periferne krvi i urina odredio se broj kopija BK virusa pomoću lančane reakcije polimeraze (PCR-a). Svaki pozitivan nalaz BK virus PCR-a smatran je infekcijom BK virusa. Bolesnicima s visokom razinom serumskog kreatinina i ostalim znakovima pogoršanja funkcije bubrežnog presatka je učinjena biopsija. Svrha biopsije bila je otkriti razlog disfunkcije presatka i dokazati radi li se o BK virusom uzrokovanoj nefropatiji ili nekom drugom uzroku.

Izdvojeni su bolesnici kod kojih je dokazan BK virus u krvi i/ili urinu. Ukupno je bilo 59 (3%) bolesnika sa pozitivnim nalazom BK virusa. Među njima je 78% muškaraca prosječne dobi od 47 godina, a čak 14% bolesnika sa pozitivnim nalazom BK virusa razvilo je BK virusom uzrokovanu nefropatiju. Retrogradno je praćena promjena imunosupresivne terapije, obzirom na pojavu BK virusa, te uspješnost promjene imunosupresivne terapije.

Zabilježeni su opći podaci o bolesnicima sa pozitivnim nalazom BK virusa (dob, spol, ostale bolesti), podaci o darovateljima bubrega (dob, krvna grupa, spol, uzrok smrti, vrijeme hladne ishemije), te podaci o samoj transplantaciji (prva/druga, vrsta i datum transplantacije). Iz dokumentacije su izvađeni i podaci o primateljima bubrega koji uključuju osnovnu bolest bubrega, datum početka dijalize, HLA nepodudarnost, hepatitis B/C, akutno odbacivanje presatka i liječenje. U slučaju akutnog odbacivanja presatka zabilježeni su podaci o tipu odbacivanja (humoralno/stanično), o datumu kada je došlo do odbacivanja te o primjenjenoj terapiji. Izvađeni su podaci o imunosupresivnoj terapiji koji uključuju tip imunosupresivnih lijekova koji su se koristili i njihove doze, te evidenciju promjene terapije (povećanje/smanjenje doze, promjena lijeka, ukidanje lijeka) u slučaju pozitivnog nalaza BK virusa u krvi ili urinu. Za svaki pozitivan nalaz BK virusa izvađeni su iz baze podaci o broju kopija virusa u krvi/urinu, datum kada je evidentiran taj nalaz, te terapija koja se primjenila. U analizi podataka koristili smo metode deskriptivne statistike. Za uzorke sa normalnom raspodjelom korišteni su parametrijski testovi [ prosječna vrijednost  $\pm$  SEM (standard error of the mean)].

## 7. REZULTATI

Medicinska dokumentacija 1960 bolesnika koji se prate u našem transplantacijskom centru je pregledana te su izdvojeni bolesnici s pozitivnim nalazom BK virusa u krvi ili urinu. Ukupno je bilo 59 (3%) bolesnika sa pozitivnim nalazom BK virusa. 78% bolesnika su muškarci, a 22% su žene. Prosječna dob bolesnika bila je 47 godina. Među bolesnicima sa pozitivnim nalazom BKV, on je većinski (58%) bio prisutan i u urinu (BK virurija) i u krvi (BK viremija). Kod 32% bolesnika BKV je bio prisutan samo u urinu (BK virurija), a kod 10% bolesnika bio je prisutan samo u krvi (BK viremija) (Tabl. 1). 14% bolesnika sa pozitivnim nalazom BK virusa razvilo je BK-virusom uzrokovanu nefropatiju.

Tablica 1. Podaci o nalazu BKV kod bolesnika

### POZITIVAN NALAZ BKV

%

|                        |    |
|------------------------|----|
| BK VIRURIJA I VIREMIJA | 58 |
| BK VIRURIJA            | 32 |
| BK VIREMIJA            | 10 |

U trenutku dijagnoze 68% bolesnika liječeno je kombinacijom takrolimusa uz mikofenolat mofetil i kortikosteroide. 15% bolesnika liječeno je kombinacijom ciklosporina uz mikofenolat mofetil i kortikosteroide, a 10% bolesnika liječeno je kombinacijom takrolimusa uz everolimus i kortikosteroide (Tabl. 2).

Tabl. 2. Imunosupresivna terapija bolesnika u trenutku dijagnoze BKV. TAC: Takrolimus; MMF: Mikofenolat mofetil; KS: Kortikosteroidi; EVERO: Everolimus;

## IMUNOSUPRESIJA U

### TRENUTKU DIJAGNOZE

%

|                  |    |
|------------------|----|
| TAC + MMF + KS   | 68 |
| CYS A + MMF + KS | 15 |
| TAC + EVERO + KS | 10 |

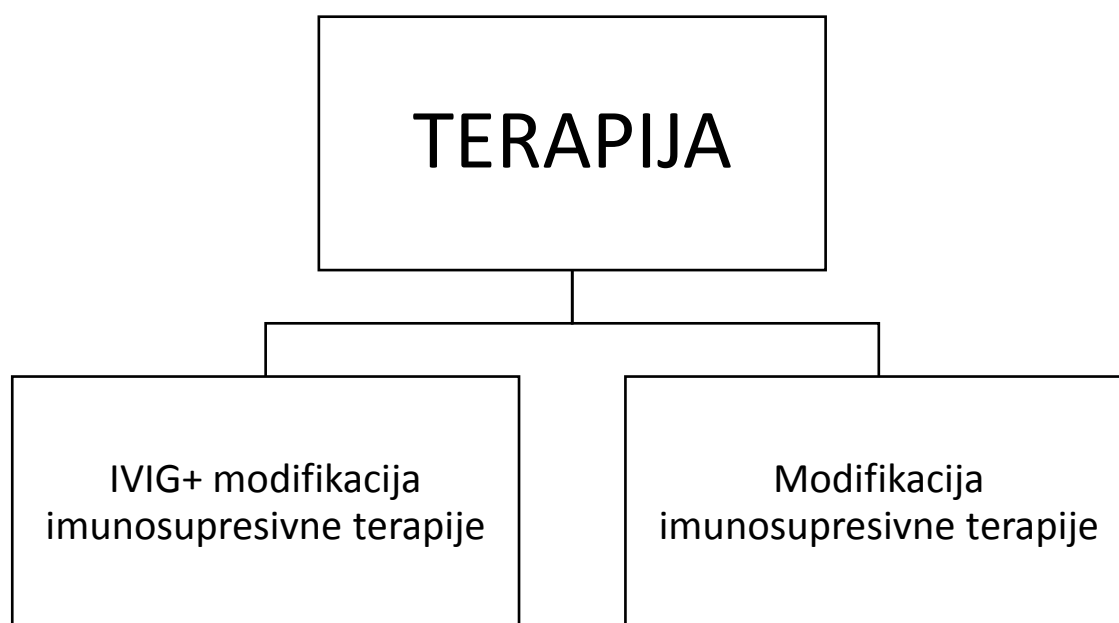
Terapijski pristup se u 58 % bolesnika temeljio na smanjivanju doze imunosupresiva. U 8,4% slučajeva napravilo se prevođenje takrolimusa u ciklosporin i/ili zamjena ICN everolimusom. U 22% slučajeva izmjenila se terapija uvođenjem ciprofloksacina.

BK-virusom uzrokovana nefropatija (BKVAN) dijagnosticirana je kod 14% bolesnika s pozitivnim nalazom BK virusa u krvi i/ili urinu. Među bolesnicima s BKVAN njih 62,5 % su muškarci, dok je 37,5% žena. Kod 25% radilo se o drugoj transplantaciji bubrega obzirom da je nakon prve došlo do odbacivanja presatka. Panel reaktivnih protutijela (PRA) bio je > 20% kod 37,5 % bolesnika. Taj podatak nam je važan uzimajući u obzir da što je veća PRA vrijednost, niža je vjerojatnost uspješnog primanja presatka. HLA nepodudarnost iznosila je  $3,5 \pm 0,4$  (Tabl. 3). Prosječan period nakon transplantacije do vremena dijagnoze iznosio je 18,1 mjesec (u rasponu od 2,7-52,9 mjeseci).

Tabl. 3. Karakteristike bolesnika sa dijagnosticiranom BK-virusom uzrokovanom nefropatijom

|                       |           |
|-----------------------|-----------|
| MUŠKARCI              | 62,5 %    |
| DRUGA TRANSPLANTACIJA | 25 %      |
| PRA > 20%             | 37,5 %    |
| HLA MM                | 3,5 ± 0,4 |

Kao inicijalna imunosupresija kod bolesnika sa BKVAN u 12,5 % korišten je Thymoglobulin, u 87,5 % slučajeva korištena je kombinacija takrolimusa sa mikofenolat mofetilom i kortikosteroidima, dok je u 12,5 % slučajeva korištena kombinacija takrolimusa sa everolimusom i kortikosteroidima (Slika 1.).

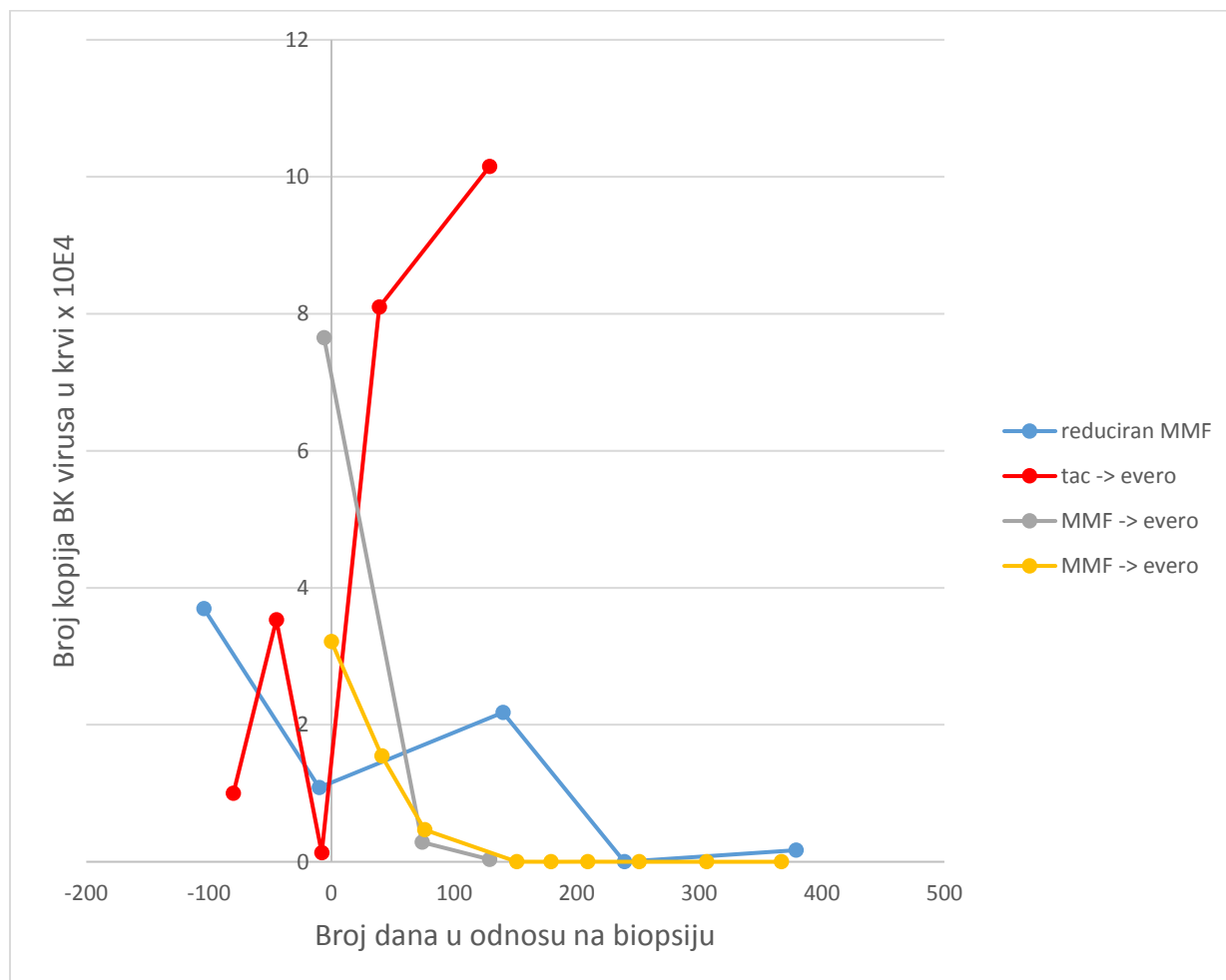


Slika 1. Oblik terapije kod bolesnika sa BK virusom uzrokovanom nefropatijom.

IVIG: intravenski imunoglobulini;

Od ukupno osam bolesnika sa dijagnosticiranom BKVAN, jedan je umro a dvoje je završilo na hemodijalizi zbog disfunkcije presatka.

Usporedili smo broj kopija BK virusa u krvi sa modifikacijom imunosupresivne terapije kod bolesnika sa BKVAN (Slika 2 i 3)



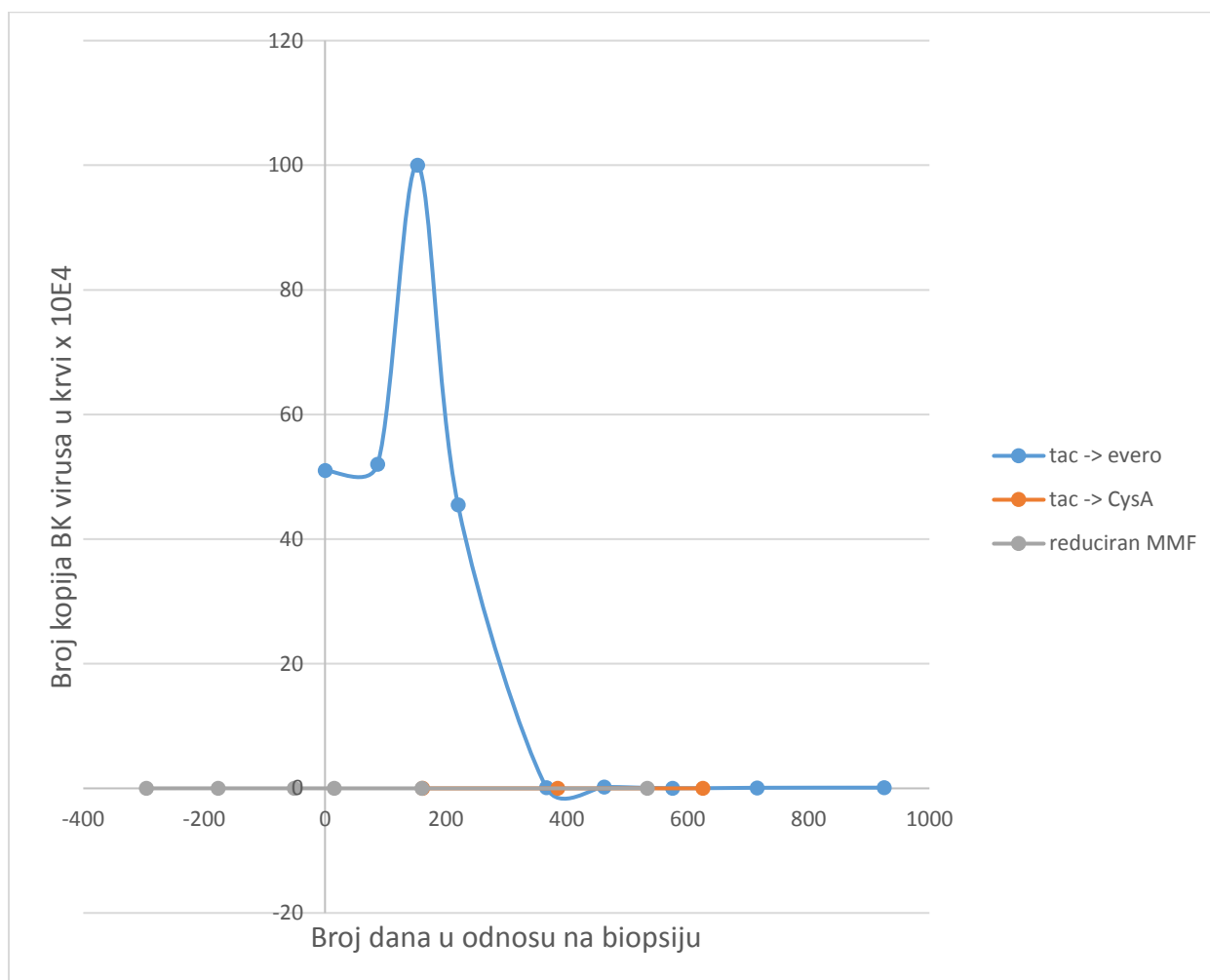
Slika 2. Prikaz bolesnika sa BKVAN koji su liječeni IVIG i modifikacijom imunosupresivne terapije. Broj 0 unesen na apscisi grafa predstavlja vrijeme kad je učinjena biopsija presatka.

*MMF - mikofenolat mofetil, TAC – takrolimus, EVERO – everolimus;*

U prikazu bolesnika koji su liječeni IVIG-om i modifikacijom imunosupresije, svaka linija prikazuje jednog bolesnika. Crvena linija se odnosi na bolesnika koji je na kraju umro od posljedica CMV pneumonije. Ostali bolesnici su živi i imaju funkcionalni graf.

Iz grafa možemo zaključiti kako se broj kopija BK virusa u krvi značajno smanjio nakon zamjene mikofenolat mofetila sa everolimusom kod oboje bolesnika. Broj kopija BK virusa u krvi kod oba bolesnika koji su primili taj oblik terapije, smanjio se na 0 u prosjeku 120-130

dana nakon biopsije presatka. Također je došlo do uspjeha u smanjivanju broja kopija BK virusa nakon modifikacije terapije redukcijom doze mikofenolat mofetila. Kod bolesnika kojem je primjenjen taj oblik terapije još uvijek je prisutan BK virus u krvi, međutim u izrazito niskom broju kopija. Do značajnog smanjenja broja kopija BK virusa kod tog bolesnika došlo je otprilike 220 dana nakon biopsije presatka. Zamjena takrolimusa sa everolimusom nije dovela do smanjivanja broja kopija BK virusa kod odabranog bolesnika. Iz priloženog možemo zaključiti, da je kod bolesnika koji su primali intravenske imunoglobuline uz imunosupresivnu terapiju, modifikacija terapije u obliku zamjene mikofenolat mofetila sa everolimusom bila najuspješniji oblik terapije.



Slika 3. Prikaz bolesnika sa BKVAN koji su liječeni modifikacijom imunosupresivne terapije. Broj 0 unesen na apscisi grafa predstavlja vrijeme kad je učinjena biopsija presatka.

*MMF - mikofenolat mofetil, TAC – takrolimus, EVERO – everolimus, CysA - Ciklosporin;*

U prikazu bolesnika koji su liječeni samo modifikacijom imunosupresije, svaka linija prikazuje jednog bolesnika. Plava linija predstavlja bolesnika sa najvećim brojem kopija, što je ujedno i posljedica toga da je liječen bolusima kortikosteroida zbog akutnog odbacivanja presatka, ali sada je na kraju završio i na dijalizi. Ostali bolesnici još imaju funkcionalni presadak. Kod odabranog bolesnika zamjena takrolimusa everolimusom nije se pokazala kao uspješna modifikacija terapije u svrhu smanjenja broja kopija BK virusa.

Među odabranim slučajevima bolesnika sa BKVAN, usporedbom nekoliko najučestalijih metoda modifikacije imunosupresivne terapije koje se koriste u današnje vrijeme, najmanje uspješnom se pokazala zamjena takrolimusa s everolimusom. Najbolji rezultati u smanjivanju broja kopija BK virusa među našim bolesnicima postigli su se zamjenom mikofenolat mofetila sa everolimusom.



## 8. RASPRAVA

U ovom retrospektivnom kohortnom istraživanju, iz medicinske dokumentacije 1960 bolesnika koji se prate u našem transplantacijskom centru, izdvojeni su bolesnici kojima je zabilježen pozitivan nalaz BK virusa u krvi i/ili urinu. Kod tih bolesnika praćena je modifikacija imunosupresivne terapije i njeni ishodi u vidu poboljšanja ili pogoršanja funkcije bubrežnog presatka.

Glavni cilj ovog istraživanja bio je proučiti utjecaj promjene imunosupresivne terapije na reaktivaciju BK virusa te otkriti najbolju intervenciju u slučaju povišenih koncentracija BK virusa u krvi i/ili urinu.

Reaktivacija BK virusa nakon transplantacije bubrega postala je važan problem u području nefrologije. Brojni parametri uključujući imunosupresiju, karakteristike primatelja, kvaliteta presatka i specifične značajke virusa smatraju se značajnima u razvoju infekcije BK virusom (18). Postoje brojne diskusije u vezi rizičnih faktora za nastanak infekcije i razvoja BKVAN.

Hirsch i sur. istaknuli su kako je razvoj BK infekcije posljedica više čimbenika, uključujući one vezane za primatelja presatka, presadak i BK virus, te čimbenike koji se mogu modulirati kao što je imunosupresivna terapija. Svi oni mogu dovesti do nastanka BKVAN, a sama intervencija je teška zbog nedostatka specifičnih antivirusnih lijekova i oslanja se uglavnom na poboljšanje imunosupresivne terapije (19).

Uloga imunosupresivne terapije u razvoju BK virurije i viremije nije još razjašnjena te nema mnogo podataka o tome.

Dadhania i sur. radili su istraživanje u kojem su pratili 120 primatelja bubrežnog presatka 1, 3, i 6 mjeseci poslije transplantacije, u svrhu utvrđivanja rizičnih faktora za replikaciju BK virusa. U njihovom istraživanju prevalencija BKV replikacije se povećavala kroz period praćenja, te je najveća bila 6 mjeseci poslije transplantacije. Rezultati njihovog istraživanja sugeriraju da je održavanje doze steroida u terapiji nezavisni rizični čimbenik za replikaciju BK virusa kod primatelja bubrežnog presatka koji su uz to na terapiji takrolimusom i mikofenolat mofetilom (20).

Thölking i sur. su određivali metabolizam takrolimusa (izražen kao koncentracija takrolimusa u krvi) kod ispitanika u svojem istraživanju i usporedili ga sa BK viremijom. Prema njihovim

rezultatima, brzi metabolizam takrolimusa povezan je sa BK viremijom poslije transplantacije. Računanje metabolizma takrolimusa odmah poslije transplantacije moglo bi imati bitnu ulogu u identifikaciji bolesnika koji su pod rizikom, i u odabiru optimalne imunosupresivne terapije (18).

Postoji više pristupa promijeni terapije kod pojave BK virusa u krvi i/ili urinu.

Wojciechowski i sur. usporedili su učinkovitost zamjene MMF sa everolimusom i 50% smanjenje doze MMF kod liječenja BKV infekcije nakon transplantacije bubrega. Ispitanici su bili inicijalno na kombiniranoj terapiji takrolimusom, MMF i kortikosteroidima, a cilj im je bio postići 50% smanjenje BK virurije ili nestanak BK viremije. Zamjena MMF sa everolimusom među njihovim ispitanicima pokazala se uspješnijim oblikom terapije, ali nije postigla statistički značajnu vrijednost (21).

Među istraživanjima o terapiji reaktivacije BK virusa poslije transplantacije, istaknulo se i istraživanje koje su proveli Hirsch i sur. Njihovi rezultati govore u prilog ciklosporinu kao boljoj terapijskoj opciji u odnosu na takrolimus kod BK viremije. Kao rizične čimbenike za nastanak BK viremije, predlažu uz takrolimus, između ostalog i visoke doze kortikosteroida, stariju dob, i muški spol (14). Uzimajući u obzir navedeno, kao i činjenicu da je u zadnje vrijeme prilikom korištenja inhibitora kalcijneurina, postalo učestalije korištenje upravo takrolimusa, potrebno je takrolimus smatrati potencijalno štetnim faktorom (22).

Na temelju svih ovih spoznaja, možemo uvidjeti značaj pravilnog liječenja reaktivacije BK virusa i sprečavanja nastanka BK virusom uzrokovane nefropatije.

U ovom smo istraživanju izdvojili ukupno 59 (3%) bolesnika sa pozitivnim nalazom BK virusa, te smo retrogradno pratili pojavu BK virusa u njihovoj krvi i/ili urinu i modifikaciju imunosupresivne terapije. Među našim ispitanicima, modifikacija terapije u obliku zamjene mikofenolat mofetila sa everolimusom se pokazala najuspješnijom u smanjivanju broja kopija BK virusa u krvi i/ili urinu.

## 9. ZAKLJUČAK

Rezultati našeg rada su pokazali da je modifikacija imunosupresivne terapije u obliku zamjene MMF sa everolimusom, kod bolesnika sa BKVAN, uspješan način liječenja. Također taj način liječenja pokazao se uspješan u smanjenju broja kopija BK virusa u krvi. Naši rezultati ukazuju na to da se ranom intervencijom i promjenom terapije, prilikom dijagnoze povišenih koncentracija BKV u krvi i/ili urinu, može spriječiti nastanak BKVAN i poboljšati ishod bubrežnog presatka. Time smo potvrdili hipotezu našeg istraživanja. Kroz prikaz multiplih slučajeva i najuspješnije modifikacije imunosupresivne terapije, ostvarili smo glavni cilj našeg istraživanja. Također smo prikazali učestalost reaktivacije BKV kod bolesnika s transplantiranim bubregom. Ukazali smo i na važnost problema reaktivacije BKV i nastanka BKVAN. Usprkos velikom napretku na području transplantacije bubrega i detaljnom praćenju bolesnika poslije transplantacije sa uvođenjem probira na BK virus kod svih novotransplantiranih bolesnika, još uvijek nisu točno utvrđeni rizični čimbenici za nastanak BK viremije i/ili virurije, te nisu uspostavljene točne smjernice za pristup liječenju reaktivacije BK virusa kod transplantiranih bolesnika. Dijagnoza BKVAN se generalno najčešće postavlja biopsijom bubrežnog presatka, ali zbog sličnosti patološkog preparata BKVAN i akutnog celularnog odbacivanja, ponekad ju je teško postaviti (23). Dijagnostičke strategije pomoću citologije urina i mjerenja broja kopija BKV u plazmi dovele su do ranijeg postavljanja dijagnoze BKVAN, što je povećalo uspješnost intervencije (19). U svrhu terapije BKVAN, kao inicijalna metoda liječenja, trenutno se zagovara redukcija imunosupresije. Cidofovir se pokazao također uspješan u niskim dozama kod liječenja bolesnika sa BKVAN(23).

Uzimajući u obzir sve navedeno, BKVAN značajan je problem kod bolesnika sa transplantiranim bubregom, te njegova učestalost neprestano raste unutar zadnjih 20-ak godina. Uspjeh modifikacije imunosupresivne terapije u obliku zamjene mikofenolat mofetila sa everolimusom značajno je otkriće, koje je potrebno detaljnije istražiti na većem broju ispitanika i uz redovito praćenje.

## 10. ZAHVALE

Prije svega, zahvaljujem svojoj mentorici, doc. dr. sc. Nikolini Bašić Jukić na predloženoj temi rada, i usmjeravanju tijekom njegove izrade. Iskreno se zahvaljujem na ljubaznosti, pristupačnosti i strpljenju koje mi je pružila tijekom cijelog istraživanja.

Zahvaljujem se dr. sc. Vesni Furić Čunko na pomoći oko statističke analize podataka, na njenim savjetima i nesebičnom prenošenju znanja koji su mi pomogli u izradi ovog rada.

Također zahvaljujem članovima komisije prof. dr. sc. Željku Kaštelanu i prof. dr. sc. Jasenki Markeljević na razumijevanju i vremenu uloženom prilikom ocjenjivanja ovog rada.

Za vrijeme ovog šestogodišnjeg perioda studiranja, koji će mi ostati među najljepšim uspomenama, nije izostala ni potpora moje obitelji. Moji roditelji, sestre, i teta, bez čije bezuvjetne podrške, razumijevanja i ljubavi, ove životne misije ne bi bilo.

Veliko hvala uputila bih i Darjanu, koji me uvijek podržavao, te svojom prisutnošću činio ovaj studij lakšim i zabavnijim.

## 11. LITERATURA

1. Tonelli M, Wiebe N, Knoll G, Bello A, Browne S, Jadhav D, i sur. Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. *Am J Transplant*. 2011;11(10):2093-2109.
2. Knoll G, Humar A, Fergusson D, Johnston O, House AA, Kim SJ, i sur. Levofloxacin for BK Virus Prophylaxis Following Kidney Transplantation. *JAMA*. 2014;312(20):2106-2114.
3. Demeter, LM. JC, BK and other polyoma viruses. in: GL Mandell, JE Bennett, R Dolin (Eds.) *Principles and Practise of Infectious Disease*, chap 123. Churchill Livingstone, London, England; 1995:1400–1406.
4. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2009;9 Suppl 3:S1–155.
5. Pakfetrat M, Yaghobi R, Salmanpoor Z, Roozbeh J, Torabinezhad S, i sur. Frequency of Polyomavirus BK Infection in Kidney Transplant Patients Suspected to Nephropathy. *Int J Organ Transplant Med*. 2015;6(2):77-84.
6. Vigil D, Konstantinov NK, Barry M, Harford AM, Servilla KS, Kim YH, i sur. BK nephropathy in the native kidneys of patients with organ transplants: Clinical spectrum of BK infection. *World J Transplant*. 2016;6(3):472–504.
7. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, Limaye AP, i sur. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation*. 2005;79(10):1277-1286.
8. Ramos E, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hamze O, Fink JC, Klassen DK, i sur. Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:2145–2151.
9. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, i sur. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant*. 2005;5:582–594.

10. Hardinger KL, Koch MJ, Bohl DJ, Storch GA, Brennan DC. BK-virus and the impact of pre-emptive immunosuppression reduction: 5-year results. *Am J Transplant*. 2010;10:407–415.
11. Lee B, Gabardi S, Grafals M, Hofmann M, Akalin E, Aljanabi A, i sur. Efficacy of Levofloxacin in the Treatment of BK Viremia: A Multicenter, Double-Blinded, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014 Mar 7; 9(3): 583–589.
12. Deng WM, Liu YN, Yu LX, Deng WF, Fu SJ, Xu J, i sur. Early intervention of BK virus replication promotes stabilization of renal graft function. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2017 Aug 20;37(8):1110-1115.
13. Moscarelli L, Caroti L, Antognoli G, Zanazzi M, Di Maria L, Carta P, Minetti E. Everolimus leads to a lower risk of BKV viremia than mycophenolic acid in de novo renal transplantation patients: a single-center experience. *Clin Transplant*. 2013;27(4):546-54.
14. Hirsch HH, Vincenti F, Friman S, Tuncer M, Citterio F, Wiecek A, i sur. Polyomavirus BK Replication in De Novo Kidney Transplant Patients Receiving Tacrolimus or Cyclosporine: A Prospective, Randomized, Multicenter Study. *Am J Transplant*. 2013 Jan; 13(1): 136–145.
15. Kim H, Yu H, Baek CH, Han DJ, Park SK. High-dose steroid therapy in BK viremia adversely affected the long-term graft function after kidney transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2016 Dec; 18(6):844-849.
16. Jaw J, Hill P, Goodman D. Combination of Leflunomide and Everolimus for treatment of BK virus nephropathy. *Nephrology (Carlton)*. 2017 Apr;22(4):326-329.
17. Viscount HB, Eid AJ, Espy MJ, Griffin MD, Thomsen KM, Harmsen WS, i sur. Polyomavirus polymerase chain reaction as a surrogate marker of polyomavirus-associated nephropathy. *Transplantation*. 2007;84:340–345.
18. Thölking G, Schmidt C, Koch R, Schuette-Nuetgen K, Pabst D, Wolters H i sur. Influence of tacrolimus metabolism rate on BKV infection after kidney transplantation. *Sci Rep*. 2016; 30;6:32273.
19. Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis* 2003; 3:611–623.

20. Dadhania D, Snopkowski C, Ding R, Muthukumar T, Chang C, Aull M i sur. Epidemiology of BK virus in renal allograft recipients: independent risk factors for BK virus replication. *Transplantation*. 2008; 86(4):521-8.
21. Wojciechowski D, Chandran S, Webber A, Hirose R, Vincenti F. Mycophenolate Mofetil Withdrawal With Conversion to Everolimus to Treat BK Virus Infection in Kidney Transplant Recipients. *Transplant Proc*. 2017 Oct;49(8):1773-1778.
22. Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RW, Fung JJ, Bustami RT, Barr ML, i sur. Immunosuppression: Evolution in practice and trends, 1994–2004. *Am J Transplant* 2006; 6(5 Pt 2): 1111–1131.
23. Vats A, Randhawa PS, Shapiro R. Diagnosis and treatment of BK virus-associated transplant nephropathy. *Adv Exp Med Biol*. 2006; 577:213-27.

## 12. ŽIVOTOPIS

### OSOBNİ PODACI

Ime i prezime: Ana Rukavina

Datum i mjesto rođenja: 17.11.1993., Zagreb

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa: Ulica Paškala Buconjića 5, 10000 Zagreb

E-mail adresa: ana.rukavina1@gmail.com

Rođena sam 17. studenog 1993. u Zagrebu, gdje sam pohađala OŠ Pantovčak, a nakon toga V. gimnaziju. Usporedno sa tim, pohađala sam i Glazbenu školu Blagoje Bersa, te sam završila osnovnu i srednju glazbenu školu, te maturirala. Tečno govorim engleski i njemački jezik. Medicinski fakultet upisala sam 2012. godine. Za vrijeme studija bila sam članica studentskih udruženja CroMSIC i EMSA te sam sudjelovala u studentskim radionicama, kongresima i u organizaciji projekata kao što su škola hitne medicine u Dubrovniku (Dubrovnik Summer School of Emergency Medicine), ZIMS, i „Break the silence“ projekta. Na studiju sam se bavila i znanstvenim radom, u okviru čega sam napisala nekoliko radova na na zavodu za nefrologiju, hipertenziju, dijalizu i transplantaciju Klinike za unutrašnje bolesti, Kliničkog bolničkog centra Zagreb. U okviru katedre za medicinsku biologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu sam dvije godine radila kao demonstratorica. U okviru klinike za pedijatriju KBC-a sam godinu dana radila kao demonstratorica na odjelu za nefrologiju.